ÜBER DIE HÄUFIGKEIT DER PRÄ-BETA-LIPOPROTEINE UND DER KOHLENHYDRATINDUZIERBAREN HYPERLIPIDÄMIE BEI GESUNDEN JUNGEN ERWACHSENEN

WERNER MAIER

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546014_0028

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Direktor: Prof. W. Seitz)

ÜBER DIE HÄUFIGKEIT DER PRÄ-BETA-LIPOPROTEINE UND DER KOHLENHYDRATINDUZIERBAREN HYPERLIPIDÄMIE BEI GESUNDEN JUNGEN ERWACHSENEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von
Werner Maier
aus Freising

München 1972

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. M. Zöllner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. Seitz
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.7.1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

- Centa Eggersdorfer gewidmet -

Inhalt

A. Einleitung .....

B. Methodik .....
I. Versuchspersonen .....
II. Durchführung des Ernährungsversuches .....
III. Lipoidextrakt nach SPERRY .....
IV. Bestimmung des Gesamtcholesterins .....
V. Bestimmung der Neutralfette .....
VI. Lipoproteinelektrophorese in Agarosegel mit Albuminzusatz .....

C. Ergebnisse .....
I. Kollektiv von 108 Personen .....
II. Ernährungsversuch an 20 Personen mit kohlenhydratreicher Ernährung.....

D. Diskussion .....
I. Normalkollektiv.....
II. Ernährungsversuch .....

E. Literaturverzeichnis .....

A. EINLEITUNG

Von den derzeit bekannten Stoffwechselerkrankungen des Menschen entfällt ein großer Teil auf die Störungen des Lipoidstoffwechsels. Bei Betrachtung des kausalen Zusammenhanges zwischen Hyperlipidämie und Arteriosklerose, an deren Folgen jeder dritte Mensch der zivilisierten Welt stirbt, erkennt man deutlich die gesundheitspolitische Problematik dieser Stoffwechselstörungen sowie die Notwendigkeit, solche Veränderungen durch geeignete Methoden möglichst früh, vor Eintritt der fatalen Komplikationen, zu erfassen und die Betroffenen durch Diätberatung und andere therapeutische Maßnahmen vor Schäden zu bewahren. Nach bisher vorliegenden Untersuchungen ist die kohlenhydratinduzierte Hyperlipidämie weitaus häufiger als die fettinduzierte. Die Tatsache, daß 3/4 der von kohlenhydratinduzierter Hyperlipidämie Betroffenen eine Kohlenhydratintoleranz und damit erhöhte Disposition zur Entwicklung eines Diabetes mellitus zeigen, sowie die Möglichkeit der therapeutischen Beeinflussung der kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie durch kalorisch knappe Nahrung und durch Medikamente wie Clofibrat, machen eine Früherfassung notwendig. Eine Abklärung der Häufigkeit der ersten Anzeichen für die Stoffwechselstörung bei einer repräsentativen Anzahl junger, gesunder Erwachsener ist ein erster Schritt in dieser Richtung.

Dem Phänomen der endogenen, kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie wurde erstmals im Jahre 1950 nähere Beachtung geschenkt, als WATKIN und seine Mitarbeiter (25) beobachteten, daß bei einer Reihe von Patienten mit Hochdruck während einer fettfreien, kohlenhydratreichen Diät die Serumtriglyceridwerte anstiegen. Viele Untersucher haben in der Folgezeit diese Beobachtung bestätigt. Über eine deutliche Vermehrung der Plasmatriglyceride bei Koronarsklerose berichteten ALBRINK und MAN (2).

Die bei der kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie vermehrten Triglyceride werden im Serum in den Lipoproteinen sehr niedriger Dichte transportiert, wie von FREDRICKSON, LEVY und LEES (13) beschrieben wird. In der Lipoproteinelektrophorese kommen diese Lipoproteine als deutliche Prä-Beta-Lipoproteinbande zur Darstellung. BROWN und DOYLE (6) konnten diese Fraktion bei gesunden jungen Erwachsenen mit der Papierelektrophorese nach LEES und HATCH (17) nur in 30 % der Fälle nachweisen. Der Transport der in der Leber gebildeten Triglyceride in den Lipoproteinen sehr niedriger Dichte ins Blut ist aber beim nüchternen Menschen ein physiologischer Vorgang (13). Deshalb war mittels einer empfindlicheren Methode, der Lipoproteinelektrophorese an Agarosegel mit Albuminzusatz, zu prüfen, wie häufig und in welcher Intensität eine Prä-Beta-Lipoproteinbande im Nüchternserum junger, gesunder Erwachsener nachzuweisen ist und welche Bedeutung ihr zukommt. Die Untersuchung sollte die Vermutung bestätigen, daß bereits in einem Kollektiv scheinbar Gesunder, bei denen noch keine Manifestation eines pathologischen Stoffwechselgeschehens in Form evidenter Veränderungen bzw. Komplikationen zu erkennen ist, ein fließender Übergang von sicher Gesunden zu solchen vorhanden ist, die schon latente Veränderungen aufweisen, welche eine Entwicklung zur kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie andeuten. Diese Personen könnten bei normaler Ernährung in bezug auf ihre Lipoidwerte noch innerhalb der bisher als normal definierten Grenzen liegen, bei Stoffwechselbelastung durch hohe Kohlenhydratzufuhr jedoch einen Anstieg der Lipidwerte zeigen.

Bei allen Untersuchungen wurden das Gesamtcholesterin und die Neutralfette im Nüchternserum bestimmt. Aus diesem Kollektiv von 108 Personen wurden aufgrund der Triglyceridspiegel und der Intensität der Prä-Beta-Lipoproteinbande 20 Personen ausgewählt, die sich 9 Tage lang von einer weitgehend fettfreien, kohlenhydratreichen Diät ernährten. Zweck dieses Versuches war, das Verhalten

in der Veränderung vor allem der Serumtriglyceride unter Kohlenhydratbelastung bei Personen mit niedrigen Triglyceridwerten und schwacher bzw. fehlender Prä-Beta-Lipoproteinbande einerseits und Personen mit hohen Triglyceridwerten und stark ausgebildeter Prä-Beta-Lipoproteinbande andererseits zu untersuchen.

B. METHODIK

Für die Untersuchungen der Serumlipoide wurden Reagenzien und Lösungsmittel mit p.a. Reinheitsgrad verwendet.

I. VERSUCHSPERSONEN

Bei 108 willkürlich ausgewählten Versuchspersonen wurden im Nüchternserum Gesamtcholesterin und Triglyceride bestimmt und gleichzeitig eine Lipoproteinelektrophorese an Agarosegel mit Albuminzusatz durchgeführt. Das Kollektiv setzte sich aus gesunden, jungen Erwachsenen im Alter von 19 bis 35 Jahren zusammen. Diese 76 Männer und 32 Frauen waren nicht blutsverwandt, hatten keinen Verwandten ersten Grades mit Diabetes mellitus, kein Übergewicht und gaben normale Ernährungsgewohnheiten an. Die Blutproben wurden morgens 12 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme durch Punktion einer Armvene entnommen. In den Tagen vor der ersten Blutentnahme konnten sich die Versuchspersonen innerhalb vernünftiger Grenzen beliebig ernähren.

II. DURCHFÜHRUNG DES ERNÄHRUNGSVERSUCHS

Das Kollektiv der 108 Versuchspersonen erlaubte aufgrund der Ausprägung der Prä-Beta-Lipoproteinbande und der entsprechenden Triglyceridkonzentration im Serum eine Unterteilung in 5 Gruppen (A - E), wobei von A nach E die Intensität der Prä-Beta-Lipoproteinbande sowie die durchschnittliche Neutralfettkonzentration im Serum zunahmen. Schließlich wurden 11 Personen der Gruppen A und B und 9 Personen der Gruppen D und E je 9 Tage lang mit einer kohlenhydratreichen Kost ernährt, die 7 g Kohlenhydrat

pro kg Körpergewicht und Tag enthielt. Der Diätplan wurde anhand von Lebensmitteltabellen aufgestellt und bestand aus einer Zusammenstellung verschiedener Tagesmenüs, die kalorisch und hinsichtlich des Kohlenhydratgehaltes gleichwertig waren und sich im wesentlichen aus Süßspeisen, Traubenzucker und der notwendigen Menge Eiweiß, bei möglichst geringer Fettzufuhr, zusammensetzten. Eine Tagesration enthielt bei einem Energiewert von 2370 Kcal durchschnittlich 88 g Eiweiß, 39, 5 g Fett, 466 g Kohlenhydrate und war unterteilt in 1. und 2. Frühstück, Mittagessen, Abendessen und Zwischenmahlzeiten, deren Verteilung über den Tag den Versuchspersonen überlassen blieb. Die Nahrungsmenge war dem Körpergewicht der Versuchspersonen angepaßt. Am 1., 4., 7. und 10. Versuchstag wurden im Nüchternserum die oben beschriebenen Analysen durchgeführt.

III. LIPOIDEXTRAKT NACH SPERRY (24)

Die Extraktion der Lipoide aus dem Serum wurde nach FOLCH-SPERRY durchgeführt. Das aus den Armvenen entnommene Blut wurde nach etwa 20 Minuten bei 3 500 Umdrehungen/Minute und einer Temperatur von 4 Grad Celsius 15 Minuten lang zentrifugiert. Vom abpitettierten Serum wurde 1 ml in einem 25 - ml - Meßkolben zu 8,3 ml Methanol getropft. Der Kolben wurde während des Zutropfens leicht geschüttelt, um eine möglichst feine Fällung der Proteine zu erreichen. Anschließend wurden etwa 9 ml Chloroform zugegeben und das Ganze im Wasserbad unter leichtem Schütteln erwärmt. Nach Abkühlen wurde der Meßkolben mit Chloroform bis zur Marke 25 ml aufgefüllt und der Inhalt nach Verschluß durch mehrmaliges Kippen des Kolbens gemischt. Der Kolbeninhalt wurde im Anschluß daran schnell, um Verdunstung und damit eine irreführende Konzentrierung zu vermeiden, durch ein [illegible]

der Phasentrennung an der Glaswand in der unteren Phase hafteten, wurden durch leichtes Beklopfen entfernt. Nach nochmaligem kurzem Stehenlassen wurde das Volumen der unteren Chloroformphase (zwischen 14 und 14,2 ml) notiert und die obere Phase möglichst quantitativ mit einer Kapillare abgesaugt und verworfen.
Das Zutropfen des Serums zu Methanol, einem sowohl hydrophilen als auch lipophilen Lösungsmittel bewirkt eine Zerstörung der Lipoid-Eiweiß-Bindung, wodurch erst eine vollständige Extraktion der Lipoide gewährleistet wird. Der Zusatz von Chloroform, einem ausgesprochen lipophilen Fettlösungsmittel, dient der Extraktion wenig polarer Lipoide. Obwohl das Chloroform-Methanolgemisch wahrscheinlich alle Plasmalipoide schon in der Kälte quantitativ extrahiert, erwärmt man es sicherheitshalber kurz. Die monophasige Lösung Chloroform-Methanol-Wasser (16:8:1), wie sie nach Herstellung des Rohextrakts vorliegt, wird durch Zugabe von Calciumchloridlösung in zwei Phasen aufgetrennt, in denen sich die Bestandteile entsprechend ihren Löslichkeitseigenschaften verteilen. Dabei gehen die meisten Lipoide in die Chloroformschicht, während nichtlipoide Verunreinigungen wie anorganische Salze, Aminosäuren, Peptide, Kohlenhydrate ebenso wie hinreichend hydrophile Lipoide, wie Ganglioside, Sulfatide, sowie [illegible] Phase aufgenommen werden. Durch die Trennung in zwei Phasen wird also sowohl eine Unterteilung der Serumbestandteile nach Löslichkeitseigenschaften als auch eine Konzentrierung der Lipoide erreicht. Bei der Lipoidextraktion nach SPERRY genügt die 0,8 ml Serum entsprechende Menge der unteren Phase zur Durchführung der meisten klinisch üblichen Analysen.

IV. BESTIMMUNG DES GESAMTCHOLESTERINS (26)

Die Anordnung zur Bestimmung des Gesamtcholesterins bestand aus je 4 Parallelproben aus jedem zu untersuchenden Serum-Lipoidextrakt, 2 Leerwerten und 2 Cholesterinstandardwerten. Zur Herstellung der Stammlösung für den Standardwert wurden 33,33 mg Cholesterin p.a. in 100 ml Eisessig gelöst. Hiervon wurde eine Verdünnung 1:20 in Eisessig

(entspricht 50 Mikrogramm Cholesterin pro 3 ml) als Gebrauchslösung verwendet.
Das zur Farbreaktion erforderliche Reagenz wurde auf folgende Weise hergestellt: In einem 50-ml-Meßkolben wurden zu etwa 5 bis 10 ml konz. Schwefelsäure (Dichte 1,84; pa.) 0,5 ml 10%ige Eisen (III) chloridlösung gegeben, gut gemischt, mit konz. Schwefelsäure bis zur Marke aufgefüllt und nach Verschluß des Kolbens nochmals gut gemischt. In je 2 Probengläser wurden jeweils 0,5 ml des Lipoidextraktes nach SPERRY pipettiert, die Proben daraufhin im warmen Wasserbad eingeengt, der letzte Tropfen des Lösungsmittels wurde durch Aufblasen von Stickstoff entfernt. Da trockenes Cholesterin leicht oxidiert, wurde der Rückstand sofort in je 3 ml Eisessig (p.a.; 99 - 100 %) gelöst, evtl. unter Erwärmung im Wasserbad von 60 bis 80 Grad Celsius. Nach Abkühlung wurden aus einer Bürette je 2 ml des Schwefelsäure - Eisen (III) chlorid-Reagenzes zugegeben und sofort mit Hilfe eines an den Enden abgeplatteten Glasstabes gut gemischt.
Zur Herstellung des Leerwertes wurden in 2 Probegläsern je 3 ml Eisessig mit 2 ml Farbreagenz gemischt.
Der Standardwert bestand aus der Mischung von 3 ml Cholesterinstandardlösung (50 Mikrogramm Cholesterin pro 3 ml Lösung) und 2 ml Farbreagenz.
Nach mindestens 15, höchstens 60 Minuten wurde im Eppendorf-Photometer bei einer Wellenlänge von 546 nm und breiter Blende gegen den Leerwert photometriert. Die Extinktion des Standardwertes sollte in der 1 cm-Küvette zwischen 0,270 und 0,290 liegen.
Die Ableitung der Formel zur Berechnung der Cholesterinkonzentration im Serum anhand der Extinktion der Probe geht von der einfachen Beziehung aus:

Extinktion d. Standardwerts : 50 Mikrogramm Chol.=
= Extinktion der Probe : x
(x = Menge Cholesterin in den eingesetzten 0,5 ml der unteren Phase des SPERRY-Lipoidextraktes)

Die Konzentration des Cholesterins in der unteren Phase ($c_{Chol., u.P.}$) ist dann:

$$c_{Chol.,\ u.P.} = \frac{50 \cdot \text{Ext.d.Probe}}{\text{Ext.d.Standardw.} \cdot 0.5} \quad \left[\frac{\text{Mikrogramm Chol.}}{\text{ml}}\right].$$

Die Cholesterinmenge in der gesamten unteren Phase ($m_{Chol.,\ u.P.}$) ist:

$$m_{Chol.,\ u.P.} = c_{Chol.,\ u.P.} \cdot \text{Volumen}_{u.P.} \quad \left[\text{Mikrogramm Chol.}\right]$$

Die Cholesterinmenge im Rohextrakt ($m_{Chol.,\ RE}$) ist dann, da von den 25 ml Rohextrakt nur 20 ml weiterverarbeitet wurden:

$$m_{Chol.,\ RE} = m_{Chol.,\ u.P.} \cdot \frac{5}{4} \quad \left[\text{Mikrogramm Chol.}\right].$$

Die Konzentration im Serum c_S ist dann, da die Cholesterinmenge im gesamten Rohextrakt gleich der Menge in 1ml Serum ist:

$$c_S = m_{Chol.,\ RE} \cdot 100 \quad \left[\frac{\text{Mikrogramm Chol.}}{100\ \text{ml Serum}}\right]$$

oder:

$$c_S = m_{Chol.,\ RE} \cdot \frac{100}{1000} \left[\frac{\text{Milligramm Chol.}}{100\ \text{ml Serum}}\right];$$

$$c_S = \frac{50 \cdot \text{Ext.d.Probe} \cdot \text{Volumen d.u.Phase} \cdot 5 \cdot 100}{\text{Ext.d.Standardw.} \cdot 0{,}5 \cdot 4 \cdot 1000}$$

$$\left[\frac{\text{Milligramm Chol.}}{100\ \text{ml Serum}}\right]$$

V. BESTIMMUNG DER NEUTRALFETTE

Die Bestimmung der Neutralfette im Serum wurde mit der enzymatischen Methode durchgeführt, die von EGGSTEIN und KREUTZ (10) angegeben wird. Diese Bestimmung basiert auf dem enzymatischen Nachweis von Glycerin nach alkalischer Verseifung der Serumfette. Die Bestimmung des Neutralfetts erfolgte anhand von Doppelansätzen. Zur alkalischen Verseifung wurden pro untersuchtes Serum je 2 ml der unteren Phase des Lipoidextraktes nach Sperry in zwei Zentrifugengläser mit eingeschliffenem Verschluß pipettiert, zur Ermittlung

des Leerwertes entsprechend 2 ml Chloroform. Das Lösungsmittel wurde anschließend im Wasserbad verdampft, die letzten Tropfen durch Aufblasen von Stickstoff beseitigt. In die einzelnen Gläser wurden zum Rückstand je 0,5 ml äthanolische KOH pipettiert, wobei darauf zu achten war, daß die äthanolische KOH beim Einlauf die gesamte Innenseite der Wand des Zentrifugenglases benetzte.
Zur Herstellung der äthanolischen KOH wurden 4,1 ml KOH (47 %ig, Firma Merck) mit absolutem Äthanol p.a. ad 100 ml aufgefüllt.
Die Zentrifugengläser wurden anschließend mit Glasstopfen verschlossen und 30 Minuten lang in ein Wasserbad von 70 Grad Celsius gestellt.
Nach Einpipettieren von je 1 ml Magnesiumsulfatlösung (3,7 g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, p.a. in 100 ml dest. Wasser gelöst) in jedes Glas wurden die Gläser mit Parafilm verschlossen und mindestens 30 Minuten lang bei 4 500 Umdrehungen pro Minute und einer Temperatur von 5 Grad Celsius zentrifugiert. Der Überstand wurde von dem gebildeten Niederschlag getrennt und für die enzymatische Bestimmung der Neutralfette verwendet.
Die enzymatische Reaktion verläuft, ausgehend von dem bei der alkalischen Verseifung des Neutralfetts entstehenden Glycerin, nach folgendem Schema:

$$\text{Glycerin} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{Glycerophosphat} - 3 + \text{ADP}$$

$$\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow[Mg^{++}]{\text{PK}} \text{ATP} + \text{Pyruvat}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Laktat} + NAD^+$$

Die Indikatorreaktion, die NADH - Abnahme bei der durch die Laktatdehydrogenase katalysierten Reduktion von Pyruvat bildet über die dabei stattfindende Extinktionsabnahme ein indirektes Maß für den Glyceringehalt der Probe. Die Analysen wurden unter Verwendung des Testsatzes

"Glycerin und Neutralfett" (Firma Boehringer GmbH, Mannheim) durchgeführt und erfolgte in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke bei Zimmertemperatur. In Doppelansätzen wurden in die Küvetten nacheinander pipettiert:

1 ml Lösung 1 (0,1 M Triäthanolaminpuffer, pH = 7,6 ; 0,004 M $MgSO_4$)

0.05 ml Lösung 2 (0,006 M NADH ; 0,033 M ATP; 0,011 M PEP)

0,2 ml Zentrifugatüberstand

0,01 ml Lösung 3 (2 mg LDH/ml; 1 mg PK/ml, mit Eppendorf-Pipette)

Nach diesem Schritt wurde der Inhalt der Küvetten gut gemischt und nach 10 Minuten im Photometer bei Wellenlänge 366 nm und schmaler Blende die Extinktion gegen Luft gemessen. Nach der Messung wurden

0,01 ml Lösung 4 (2 mg GK/ml)

mit der Eppendorfpipette zugegeben, der Küvetteninhalt wiederum gut gemischt und nach weiteren 10 Minuten die Extinktion bei 366 nm gegen Luft gemessen. Von der Extinktionsänderung bei Einsatz von SPERRY-Lipoidextrakt wurde jeweils die Extinktionsänderung bei Einsatz von Chloroform (Leerwert) subtrahiert.
Die Ableitung der Formel zur Berechnung der Neutralfettkonzentration im Serum (3) ergibt sich aus dem Lambert - Beerschen Gesetz:

$$\log \frac{I_o}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

I_o = Intensität des einstrahlenden Lichtes

I = Intensität des aus der Meßküvette austretenden Lichtes

c = Konzentration des lichtabsorbierenden Stoffes $\left[\frac{Mol}{ml}\right]$

ε = Extinktionskoeffizient des lichtabsorbierenden Stoffes, in diesem Falle von NADH bei 366 nm =

$$= 3{,}3 \left[\frac{cm^2}{Mikromol}\right] = 3{,}3 \cdot 10^6 \left[\frac{cm^2}{Mol}\right]$$

d = Schichtdicke der Küvette = 1 cm

Aufgelöst nach der Konzentration des lichtabsorbierenden Stoffes in der Küvette ergibt sich:

$$c = \frac{-\log I_o/I}{\varepsilon \cdot d} = \frac{\Delta E}{\varepsilon \cdot d} \left[\frac{\text{Mol}}{\text{ml}}\right]$$

ΔE = Extinktionsänderung nach Abzug des Leerwertes

Da in der enzymatischen Reaktion jedem Mol NADH + H^+, das in NAD^+ übergeht, ein Mol Glycerin und damit auch ein Mol Neutralfett entspricht, kann diese Formel direkt auf die Konzentration des Neutralfetts in der Küvette ($c_{TG,K}$) angewendet werden:

$$c_{TG,K} = \frac{\Delta E}{\varepsilon \cdot d} \left[\frac{\text{Mol}}{\text{ml}}\right]$$

Die Triglyceridkonzentration im eingesetzten Zentrifugatüberstand ($c_{TG,\ Z\ddot{U}}$) ist dann:

$$c_{TG,\ Z\ddot{U}} \quad \frac{\Delta E \cdot V}{10^{-6} \cdot \varepsilon \cdot d \cdot v} \left[\frac{\text{Mikromol}}{\text{ml}}\right]$$

V = Volumen der Lösung in der Küvette (Zentrifugatüberstand + Lösungen 1 bis 4 des Testsatzes = = 1,27 ml)

v = Volumen des eingesetzten Zentrifugatüberstandes = = 0,2 ml)

oder:

$$c_{TG,\ Z\ddot{U}} = \frac{\Delta E \cdot V \cdot \text{Molgewicht}_{TG}}{10^{-6} \cdot \varepsilon \cdot d \cdot v} \left[\frac{\text{Mikrogramm}}{\text{ml}}\right]$$

Die Triglyceridkonzentration in der unteren Phase des SPERRY - Lipoidextraktes ($c_{TG,\ u.P.}$) ist:

$$c_{TG,u.P.} = \frac{\Delta E \cdot V \cdot \text{Molgewicht}_{TG} \cdot V_{Z\ddot{U}}}{10^{-6} \cdot \varepsilon \cdot d \cdot v \cdot V_{u.P.,\text{einges.}}} \left[\frac{\text{Mikrogramm}}{\text{ml}}\right]$$

$V_{ZÜ}$ = Volumen des Zentrifugatüberstandes = 1,5 ml

$V_{u.P., einges.}$ = Volumen der eingesetzten unteren Phase = 2 ml

Für die Triglyceridkonzentration im Serum $c_{TG,S}$ ergibt sich:

$$c_{TG,S} = \frac{\Delta E \cdot V \cdot \text{Molgew.}_{TG} \cdot V_{ZÜ} \cdot V_{u.P.,ges.} \cdot 5 \cdot 10^{-3}}{10^{-6} \cdot \varepsilon \cdot d \cdot v \cdot V_{u.P., einges.} \cdot 1.4 \cdot 10^{-2}}$$

$$\left[\frac{\text{Milligramm}}{100\ \text{ml}}\right]$$

$V_{u.P., ges.}$ = Volumen der gesamten unteren Phase

Molgewicht_{TG} = Molgewicht der Triglyceride (durchschnittlich) = 850 g

$$c_{TG,S} = 306{,}625 \; \frac{\Delta E \cdot V_{u.P., ges.}}{V_{u.P., einges.}} \left[\frac{\text{mg}}{100\ \text{ml}}\right]$$

VI. LIPOPROTEINELEKTROPHORESE IN AGAROSEGEL MIT ALBUMINZUSATZ

Die Auftrennung der Serumlipoproteine an reinen Agarosegelschichten (0,8 % Agarose) nach RAPP und KAHLKE (20) führte zwar zu einer besseren Trennung der Beta - von den Prä- Beta - Lipoproteinen alsbei der Papierelektrophorese, hatte jedoch den Nachteil einer Verzerrung der Banden und mangelnder Proportionalität zwischen Lipidmenge und Farbintensität der Beta-Lipoproteine. NOBLE (19) beobachtete eine Verbesserung der Trennung von Prä-Beta- und Beta-Lipoproteinen mit abnehmender Konzentration von Agarose. Die von ihm benutzte Schicht aus 0,5 proz. Agarose, die durch 0,6 % Agar gehärtet wird, ist jedoch wegen ihrer Weichheit für manche Techniken, z.B. der Übertragung der feuchten Schicht von einer

Platte auf eine andere, nicht geeignet.
Die Lipoproteinelektrophoresen der vorliegenden Arbeit wurden in der Weise durchgeführt, wie von ZÖLLNER, GRÖBNER, BERGER und WOLFRAM (27) vorgeschlagen wird: Mit Veronal-Natriumphosphat vermischtes Agarosepulver (Instant-Gel A 08-82, Serva-Labor Heidelberg) wurde in 100 ml dest. Wasser kurz aufgekocht bis zur Lösung sämtlicher Teilchen. (Konzentration der Agarose 0,8 %, des Puffers 0,05 M, pH 8,2). Zu 50 ml des etwa 40 Grad Celsius warmen, flüssigen Gels wurde 1 ml einer Mischung aus 15 ml Trispuffer und 30 ml Rinderalbuminlösung (50 %) zugesetzt und gut gemischt. Je 50 ml des flüssigen Gels wurden über 9 mal 12 cm große Glasplatten in genau horizontal gelagerten Kunststofftrennkammern ausgegossen, so daß auch die mit Klebestreifen verschlossenen Verbindungsschlitze der Trennkammern ausgefüllt waren. Auftretende Luftblasen im Gel wurden durch vorsichtiges Abheben entfernt. Nach genügender Festigkeit des Gels, die etwa nach 30 Minuten erreicht war, wurden mit Schablone und Querstanze 3 cm von der Schmalseite der Platte entfernt vier Vertiefungen (12 mal 2 mm) im Abstand von 1 cm ausgehoben. In die vorgestanzten Vertiefungen wurden mittels vorgewärmter Enzympipetten 0,04 ml einer im Wasserbad von 52 Grad Celsius angesetzten Mischung aus 0,2 ml Serum, 0,3 ml 0,9 proz. NaCl-Lösung und 0,5 ml Agarose-Gel mit Albuminzusatz vom gleichen Mischungsverhältnis, wie zur Plattenherstellung verwendet, pipettiert. Die Vertiefungen wurden anschließend mit einem Tropfen flüssigen Gels abgedeckt. Zur Kontrolle des Fortschreitens der elektrophoretischen Wanderung wurde pro Platte eine der äußeren Vertiefungen mit bromphenolblaumarkiertem Albumin beschickt. Nach Entfernen der Klebestreifen wurden die Trennkammern auf den wassergekühlten Block der UGI Apparatur (Desega, Heidelberg, gesetzt und die Puffertröge des Geräts soweit mit 0,05 M Veronal-Natriumphos-

phat-Puffer Nr. 3815 pH 8,2 (Serva-Labor, Heidelberg) aufgefüllt, daß die Verbindung zwischen dem Gel in den Verbindungsschlitzen und dem Puffer gewährleistet war. Die Trennung erfolgte bei einer Netzspannung von 180 V (Netzgerät Typ II, Desega, Heidelberg) in 90 bis 100 Minuten bei einer Trennstrecke von 6 cm, bezogen auf Albumin.

Zur Fixierung wurden die Platten anschließend 30 Minuten lang mit 25 ml 2 proz. Essigsäurelösung überschichtet. Nach Abgießen der Essigsäurelösung wurden die Platten aus der Trennkammer gehoben, in feuchtes Chromatographiepapier (Schleicher & Schüll Nr. 2043 a) eingeschlagen und 2 Stunden lang unter einem Kaltluftventilator getrocknet.

Die Banden wurden mit Sudanschwarz B in Anlehnung an NOBLE (19) gefärbt. 400 mg Sudanschwarz B wurden in 200 ml 60 proz. Äthanol gelöst (Magnetrührer, 1 Stunde). Zur Sedimentierung ungelöster Partikel wurde die Lösung über Nacht stehengelassen. Nach Dekantieren wurde die Stammlösung mit 60 proz. Äthanol 1:2 verdünnt. Die Platten wurden mit der Schicht nach oben 2 Stunden in diese Lösung, die durch einen Magnetrührer umgewälzt wurde, eingehängt. Die von Lipoproteinen freien Teile der Schicht wurden anschließend durch ca. 20 Sekunden langes Schwenken in 60 proz. Äthanol wieder entfärbt, die angefärbte Platte getrocknet. Die densitometrische Auswertung zur Berechnung des Verhältnisses der Intensitäten der Banden jedes einzelnen Serums zueinander wurde mit einem Zusatzgerät zum Spektralphotometer DU G 4 700 der Fa. Beckman Instruments bei λ = 545 nm durchgeführt. Die Densitometrie erlaubt jedoch nur eine semiquantitative Auswertung.

C. ERGEBNISSE

I. KOLLEKTIV VON 108 PERSONEN

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Serumanalysen des Kollektivs von 108 Personen dargestellt mit Unterteilung in 5 Gruppen (A - E), wobei die Intensität der Prä-Beta-Fraktion von A nach E zunimmt.

Tab. 1 (m = männlich, w = weiblich)

GRUPPE A

Nr.	Name	Geschl.	Größe [cm]	Gew. [kg]	Alter [Jhr.]	TG [mg/100ml]	Abweichung v.Mittelw. d.Gruppe [mg/100 ml]	Cholest. [mg/100ml]	Abweichung v. Mittelw. d.Gruppe [mg/100 ml]
1	L.U.	m	170	66	19	50	15	183	14
2	Q.L.	m	175	65	29	51	14	134	63
3	S.C.	m	181	65	19	51	14	175	22
4	P.D.	w	160	50	22	53	12	189	8
5	H.H.	m	185	73	26	59	6	188	9
6	F.G.	m	189	75	24	62	3	164	33
7	S.U.	w	164	58	23	63	2	278	81
8	S.T.	m	170	60	19	65	0	152	45
9	S.C.	w	170	58	25	69	4	240	43
10	K.K.	w	175	63	30	70	5	232	35
11	P.H.	m	172	68	20	73	8	210	13
12	W.G.	m	175	70	31	76	11	162	35
13	N.D.	w	165	52	19	84	19	250	53
14	P.J.	m	176	66	22	84	19	204	7

GRUPPE B

1	L.W.	m	185	80	24	35	50	118	77
2	H.C.	w	165	55	25	52	33	161	34
3	K.M.	w	169	64	24	59	26	203	8
4	M.N.	m	178	70	22	69	14	171	24
5	W.I.	w	170	60	19	70	15	152	43
6	M.E.	w	155	49	19	70	15	209	14
7	S.G.	m	185	75	30	70	15	218	23
8	E.A.	w	165	65	24	71	14	184	11

Nr.	Name	Geschl.	Größe [cm]	Gew. [kg]	Alter [Jhr.]	TG [mg/100 ml]	Abweichung v. Mittelw. d. Gruppe [mg/100 ml]	Cholest. [mg/100 ml]	Abweichung v. Mittelw. d. Gruppe [mg/100 ml]
9	M.W.	m	170	64	24	73	12	160	35
10	T.V.	m	178	70	19	74	11	222	27
11	E.L.	m	170	65	24	78	7	226	31
12	W.F.	m	182	75	24	79	6	207	12
13	B.C.	w	165	58	27	80	5	247	52
14	M.I.	w	170	64	24	83	2	208	13
15	T.E.	m	177	70	26	83	2	194	1
16	K.P.	m	174	65	25	84	1	196	1
17	W.M.	m	165	50	28	84	1	157	38
18	J.L.	m	183	73	22	86	1	150	45
19	S.A.	w	169	65	28	87	2	167	28
20	W.M.	w	165	60	24	87	2	216	21
21	G.M.	w	170	65	20	90	5	169	26
22	W.E.	w	164	63	32	96	11	207	12
23	M.H.	m	175	70	20	97	12	162	33
24	F.M.	w	167	63	24	99	14	193	2
25	B.D.	m	178	70	24	103	18	242	47
26	S.K.	m	173	67	23	112	27	193	2
27	L.M.	w	156	46	23	115	30	220	25
28	K.I.	w	162	58	26	128	43	289	94
29	H.P.	m	190	85	26	137	52	220	25

GRUPPE C

1	K.P.	m	180	66	25	62	44	239	29
2	B.J.	m	172	70	31	68	38	190	20
3	E.E.	w	165	59	22	73	33	182	28
4	S.W.	m	172	70	20	80	26	190	20
5	S.G.	m	173	60	25	82	24	213	3
6	H.M.	w	158	55	28	82	24	237	27
7	W.F.	m	165	64	22	85	21	124	86
8	P.H.	m	178	66	26	89	17	172	38
9	E.G.	m	180	72	22	89	17	148	62
10	H.M.	m	183	61	26	92	14	260	50
11	K.P.	m	172	68	26	93	13	276	66
12	L.G.	m	175	70	25	93	13	201	9

Nr.	Name	Geschl.	Größe [cm]	Gew. [kg]	Alter [Jhr.]	TG [mg/100 ml]	Abweichung v. Mittelw. d. Gruppe [mg/100 ml]	Cholest. [mg/100 ml]	Abweichung v. Mittelw. d. Gruppe [mg/100 ml]
13	H.H.	m	175	62	23	93	13	134	76
14	S.G.	m	170	65	23	94	12	212	2
15	S.H.	m	170	56	17	95	11	171	39
16	M.A.	m	170	65	23	95	11	179	31
17	G.W.	m	170	60	29	100	6	178	32
18	D.H.	m	179	70	27	101	5	196	14
19	G.H.	m	168	63	31	101	5	222	12
20	H.E.	m	176	67	22	101	5	155	55
21	P.H.	m	179	73	23	103	3	241	31
22	R.M.	m	175	75	26	106	0	242	32
23	S.G.	m	170	64	24	107	1	196	14
24	H.C.	m	178	66	25	115	9	142	68
25	R.H.	w	168	54	28	115	9	310	100
26	M.E.	w	160	52	18	117	11	163	47
27	M.G.	w	160	60	28	120	14	224	14
28	L.H.	m	155	53	25	123	17	284	74
29	M.U.	m	169	61	22	128	22	288	78
30	K.W.	m	183	79	25	129	23	211	1
31	A.E.	w	163	56	23	129	23	198	12
32	L.H.	w	155	50	24	130	24	239	29
33	M.M.	m	176	78	23	132	26	230	20
34	L.H.	m	175	72	30	133	27	244	34
35	H.I.	w	160	48	22	134	28	170	40
36	S.H.	m	175	75	25	135	29	306	96
37	R.W.	m	181	94	25	188	82	210	0
					GRUPPE D				
1	B.S.	w	164	50	19	116	29	224	10
2	F.N.	m	168	60	22	117	28	210	4
3	D.D.	m	178	63	24	120	25	179	35
4	B.H.	m	180	77	25	122	23	190	24
5	S.H.	m	175	63	19	125	20	193	21
6	A.A.	m	173	80	23	130	15	255	41
7	R.F.	m	182	83	24	133	12	246	32
8	S.W.	m	190	82	25	134	11	184	30
9	M.K.	m	176	65	25	143	2	204	10

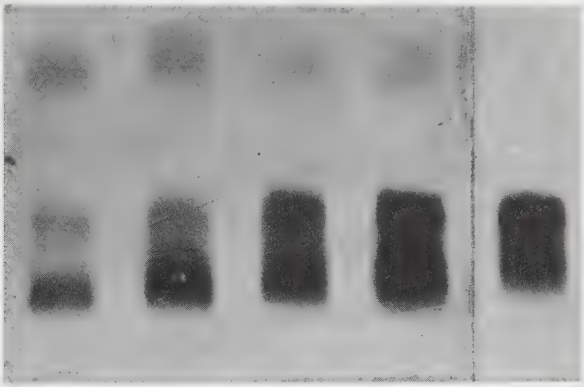
Nr.	Name	Geschl.	Größe [cm]	Gew. [kg]	Alter [Jhr.]	TG [mg / 100ml]	Abweichung v. Mittelw. d. Gruppe [mg / 100 ml]	Cholest. [mg / 100ml]	Abweichung v. Mittelw. d. Gruppe [mg / 100 ml]
10	K.W.	m	188	63	24	149	4	246	32
11	H.G.	m	188	94	25	149	4	259	45
12	S.M.	w	165	60	19	170	25	234	20
13	A.G.	m	178	60	19	175	30	220	6
14	L.H.	w	162	63	32	222	77	210	4
15	D.G.	m	176	71	25	170	25	172	42

GRUPPE E

1	H.W.	m	185	73	21	132	59	216	38
2	K.K.	m	172	60	24	140	51	234	20
3	A.H.	m	191	77	25	170	21	173	71
4	A.W.	m	176	75	19	182	9	240	14
5	F.M.	m	182	99	27	185	6	263	9
6	P.M.	w	160	49	25	189	2	287	33
7	L.K.	m	185	91	29	191	0	322	68
8	H.F.	m	175	66	28	198	7	235	19
9	H.R.	m	175	72	25	200	9	282	28
10	E.E.	m	174	82	31	204	13	332	78
11	S.W.	m	180	75	24	216	25	224	30
12	S.W.	m	182	79	19	227	36	254	0
13	H.W.	m	182	93	24	254	61	254	0

Tabelle 2 gibt eine Übersicht der Durchschnittswerte ($\bar{x}$) der Gruppen A - E :

Tabelle 2



GRUPPE	A	B	C	D	E
PERSONEN n	14	29	37	15	13
%	13,0	26,7	34,4	13,9	12,0
ALTER $\bar{x}$	22,7	24,2	24,2	23,4	23,4
TRIGLYCERIDE $\bar{x}$	65	85	106	145	191
σ	11,6	21,2	24,2	29,0	32,4
CHOLESTERIN $\bar{x}$	197	195	210	214	254
σ	40,9	35,5	47	28,5	41,8

Das Neutralfett im Serum der 108 Personen lag im Durchschnitt bei 110,6 $\pm$ 88,8 ($\bar{x} \pm 2\sigma$) mg/100 ml, das Cholesterin bei 210,5 $\pm$ 79,4 ($\bar{x} \pm 2\sigma$).

Die Zuordnung der untersuchten Personen zu den willkürlich auf die Anzahl von fünf festgelegten Gruppen A - E, wobei A die Gruppe mit dem kleinsten und E die Gruppe mit dem größten Verhältnis Prä-Beta-Fraktion: Beta-Fraktion ist, erfolgte durch makroskopische Beurteilung der angefärbten Banden zusammen mit den densitometrisch erhaltenen Kurvenbildern. Dabei zeigte sich, daß die Neutralfettwerte mit Zunahme der Intensität des Verhältnisses Prä-Beta-Fraktion: Beta-Fraktion anstiegen (s. Tab. 1 und 2).
Im einzelnen ergab sich an Durchschnittswerten für die Gruppen A - E:

Gruppe A: Spuren einer Prä-Beta-Lipoproteinbande und im Durchschnitt ($\bar{x}$) 65 mg/100 ml Neutralfett (n = 14)

Gruppe B: schwache Prä-Beta-Lipoproteinbande und $\bar{x}$ = 85 mg/100 ml Neutralfett (n = 29)

Gruppe C: deutliche Prä-Beta-Lipoproteinbande und $\bar{x}$ = 106 mg/100 ml Neutralfett (n = 37)

Gruppe D: starke Prä-Beta-Lipoproteinbande und $\bar{x}$ = 145 mg/100 ml Neutralfett (n = 15)

Gruppe E: sehr starke Prä-Beta-Lipoproteinbande und $\bar{x}$ = 191 mg/100 ml Neutralfett (n = 13)

Die prozentuale Verteilung der Personen auf die Gruppen A - E ist:
Gruppe A: 13 %
Gruppe B: 26,7 %
Gruppe C: 34,4 %
Gruppe D: 13,9 %
Gruppe E: 12 %

Alters- und Geschlechtsverteilung innerhalb der einzelnen Gruppen wichen von der des untersuchten Gesamtkollektivs nicht wesentlich ab. Prä-Beta-Lipoproteine konnten, durch die Empfindlichkeit der Methode bedingt, in nahezu jedem Serum nachgewiesen werden.

Fig. 1 und Fig. 2 zeigen in kumulativer Darstellung die einzelnen Triglycerid- bzw. Cholesterinwerte des Kollektivs, geordnet nach steigender Konzentration.

In Fig. 3 ist anhand von 61 Meßwerten die Abhängigkeit der Neutralfettkonzentration im Serum vom Verhältnis Prä-Beta-Fraktion: Betafraktion aufgezeigt. Das Verhältnis wurde jeweils durch Planimetrieren des Flächeninhalts der Beta-und Prä-Beta-Zacke der densitometrisch erhaltenen Kurvendarstellung der Lipoproteinelektrophorese ermittelt.

Fig. 1

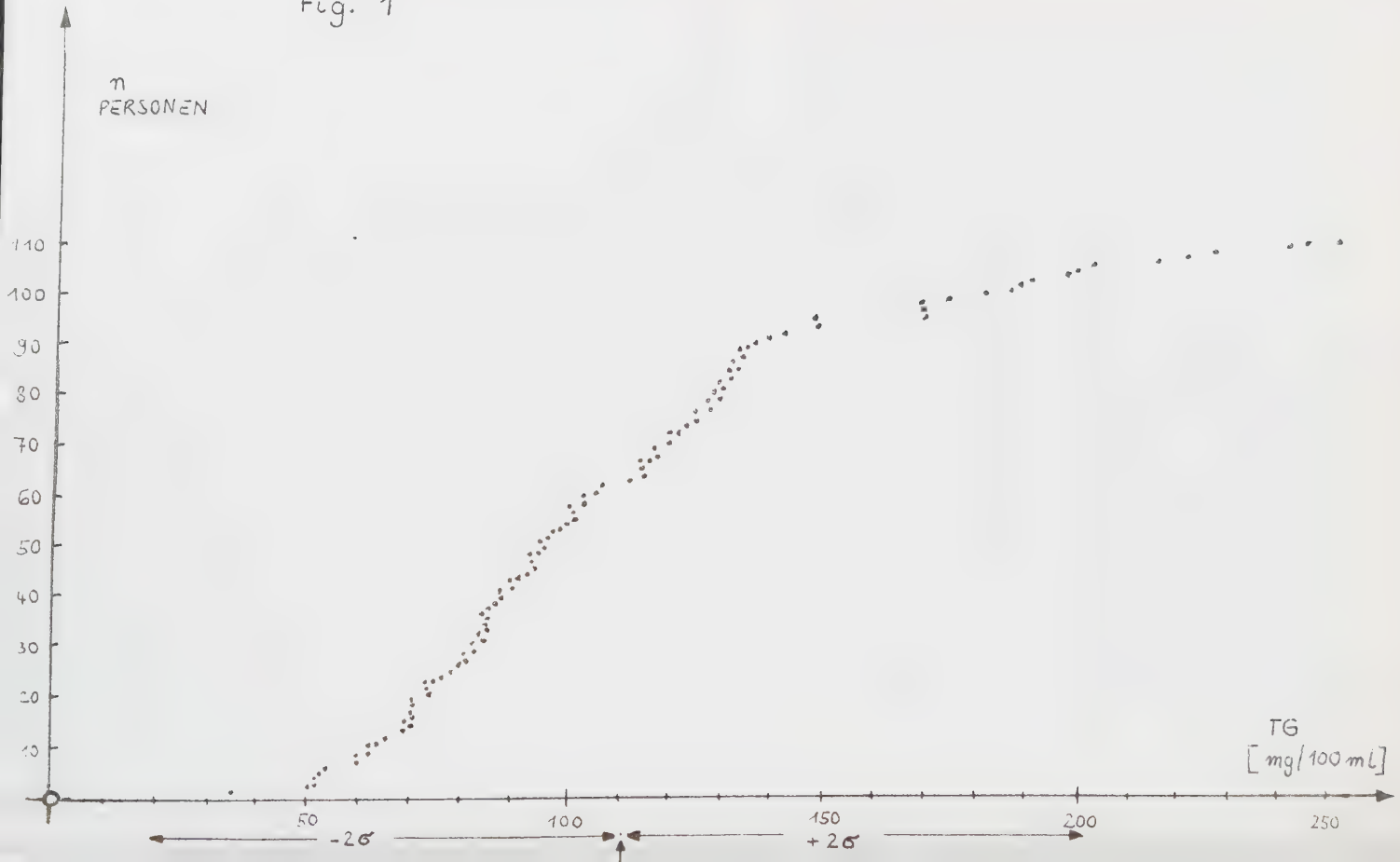

n
PERSONEN
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
TG
[mg/100 ml]
50
100
150
200
250
-2σ
+2σ

Fig. 2

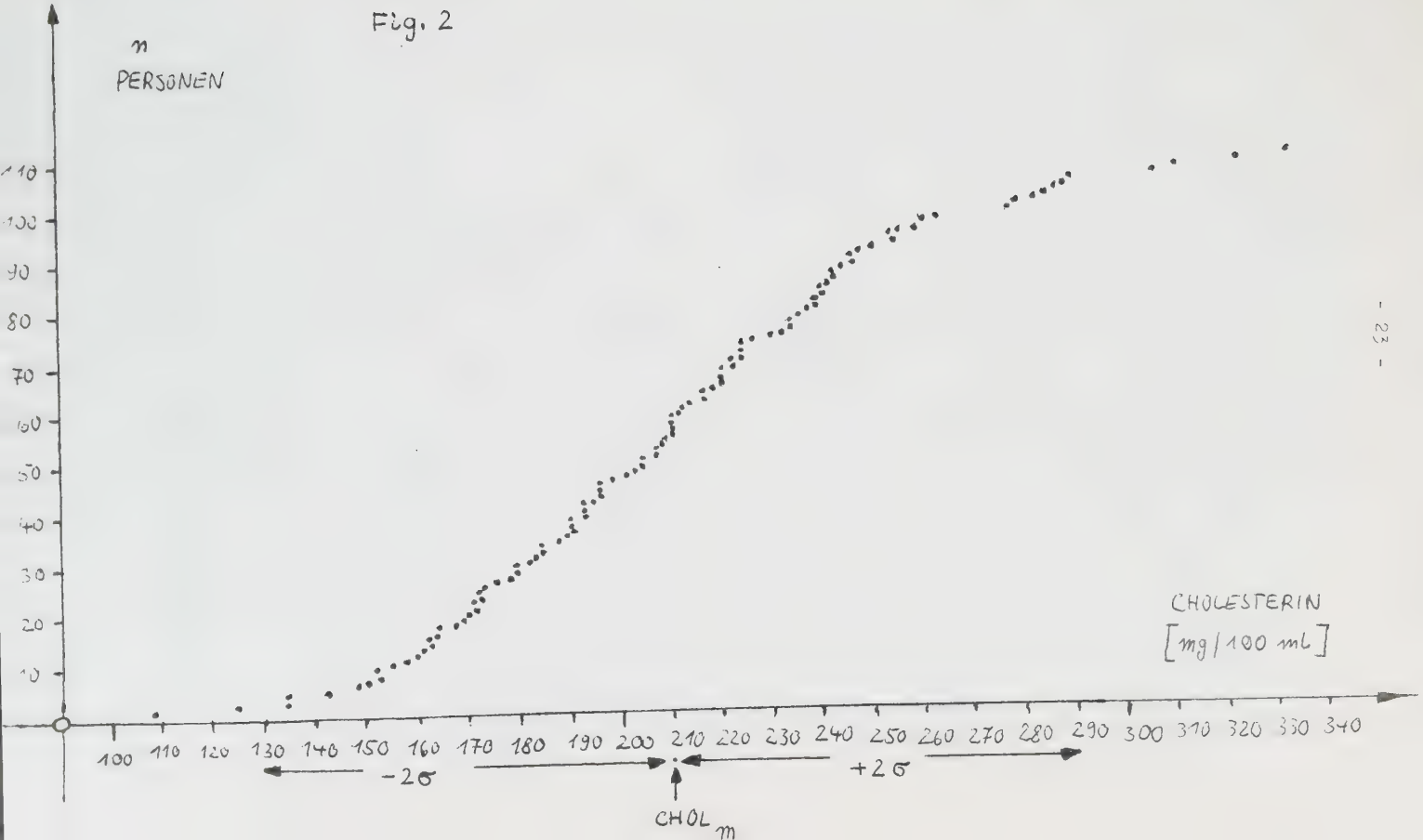
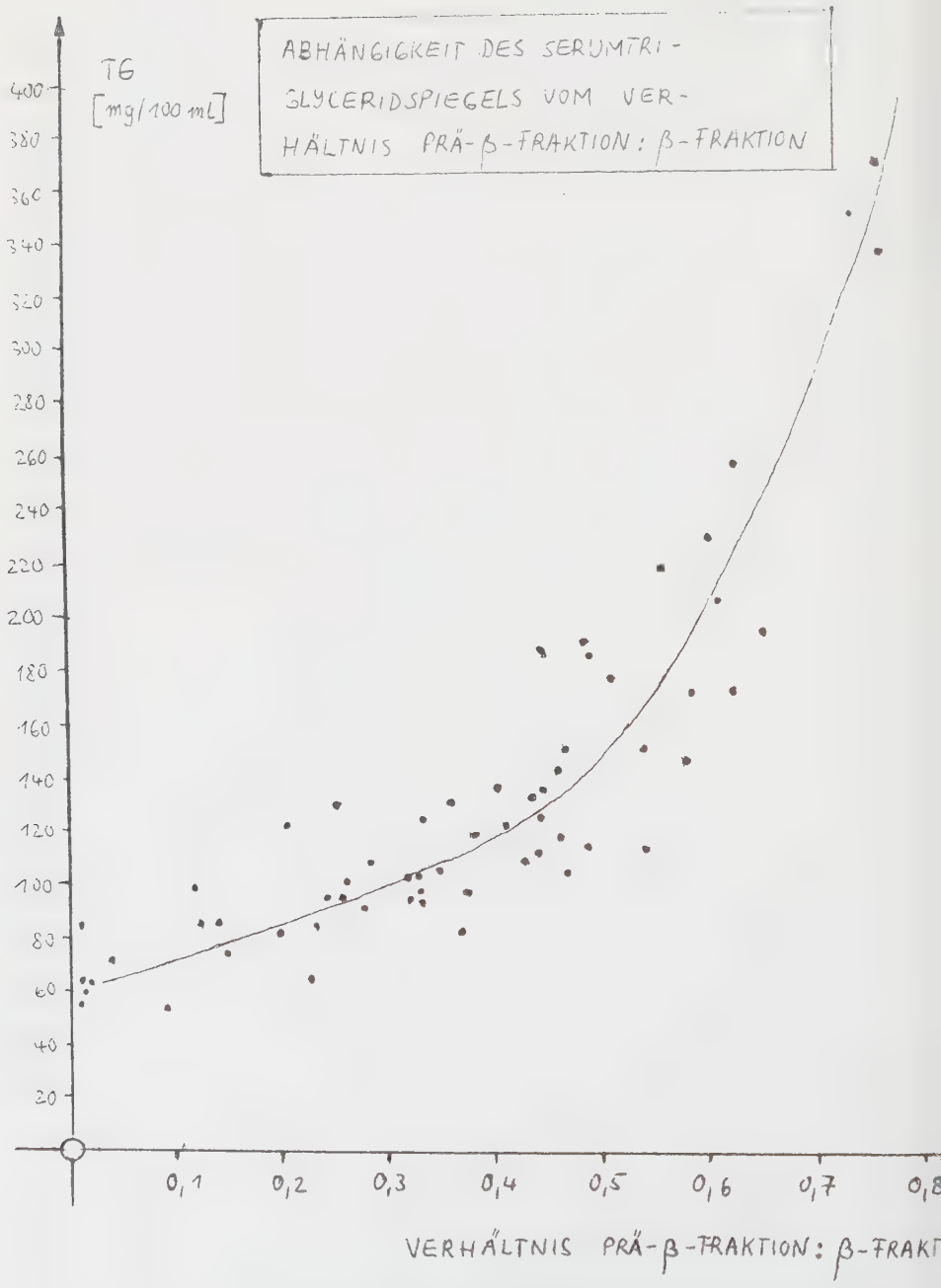

n
PERSONEN
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
100 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290 300 310 320 330 340
CHOLESTERIN
[mg/100 ml]
-2σ
+2σ
CHOL m

Fig. 3


ABHÄNGIGKEIT DES SERUMTRI-
GLYCERIDSPIEGELS VOM VER-
HÄLTNIS PRÄ-β-FRAKTION : β-FRAKTION
TG
[mg/100 mL]
400
380
360
340
320
300
280
260
240
220
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0,7
VERHÄLTNIS PRÄ-β-FRAKTION : β-FRAKT

II. ERNÄHRUNGSVERSUCH AN 20 PERSONEN MIT KOHLENHYDRATREICHER ERNÄHRUNG

Bei subakuter Belastung von 11 Personen der Gruppen A u. B und 9 Personen der Gruppen D u. E mit 7 g Kohlenhydrat/kg KG/Tg über einen Zeitraum von 9 Tagen ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) im Triglyceridanstieg der beiden ausgewählten Testgruppen. Während im Versuch die Gruppen A u. B 190 mg/100 ml TG nicht überschritten, stiegen einige Werte bei Personen der Gruppe D auf über 350 mg/100 ml. Bei einem durchschnittlichen Ausgangswert von 84,4 mg/100 ml erreichten die Gruppen A u. B ein Durchschnittsmaximum von 149,4 mg/100 ml, was einem Anstieg von 65 mg/100 ml entspricht. Die Gruppen D u. E wiesen demgegenüber bei einem durchschnittlichen Ausgangswert von 150,2 mg/100 ml und einem Durchschnittsmaximum von 277,2 mg/100 ml einen Anstieg von 127 mg/100 ml, also beinahe das Doppelte, auf (Tab. 3).

Tab. 3

	n	Triglyceride [mg/100 ml] Beginn $\bar{x}$	Triglyceride [mg/100 ml] Maximum $\bar{x}$	Triglyceride [mg/100 ml] Anstieg $\bar{x}$
Gruppen A u. B	11	84,4	149,4	65,0
Gruppen D u. E	9	150,2	277,2	127,0

Dem Anstieg des Triglyceridspiegels entsprechend zeigte sich eine Verstärkung der Prä-Beta-Lipoproteinbande in der Elektrophorese.
In der folgenden Tabelle 4 sind die Reaktionen der einzelnen Versuchspersonen bezüglich der Konzentra-

tion von Neutralfett und Cholesterin im Nüchtern-serum im Verlauf des Versuchs dargestellt.

Tab. 4

Gruppen A u. B

Nr.	Name	Tag	TG [mg/100ml]	Cholesterin [mg/100 ml]
1	W.G.	1.	54	178
		4.	82	161
	♂	7.	151	163
		10.	102	122
2	H.H.	1.	63	206
		4.	98	185
	♂	7.	122	179
		10.	96	207
3	M.W.	1.	73	168
		4.	110	165
	♂	7.	96	160
		10.	91	152
4	K.K.	1.	74	250
		4.	174	241
	♀	7.	183	227
		10.	159	221
5	M.I.	1.	80	281
		4.	129	246
	♀	7.	91	215
		10.	146	239
6	P.M.	1.	81	236
		2.	182	212
	♀	7.	155	210
		10.	181	192
7	W.M.	1.	84	173
		4.	132	143
	♀	7.	147	145
		10.	110	138
8	W.I.	1.	90	145
		4.	125	116
	♀	7.	116	125
		10.	121	105
9	G.W.	1.	98	203
		4.	127	202
	♂	7.	119	178
		10.	102	167
10	R.M.	1.	103	250
		4.	177	250
	♂	7.	190	250
		10.	122	250
11	M.E.	1.	128	177
		4.	157	165
	♀	7.	103	165
		10.	160	160

Gruppen D u. E

Nr.	Name	Tag	TG [mg/100ml]	Cholesterin [mg/100 ml]
1	H.R.	1.	122	280
		4.	243	290
	♂	7.	366	288
		10.	158	270
2	H.W.	1.	130	253
		4.	246	302
	♂	7.	210	232
		10.	236	227
3	A.E.	1.	131	200
		4.	197	170
	♀	7.	209	166
		10.	168	155
4	K.F.	1.	133	340
		4.	205	322
	♂	7.	256	328
		10.	169	296
5	K.P.	1.	142	254
		4.	150	250
	♂	7.	210	250
		10.	138	250
6	K.K.	1.	158	284
		4.	151	271
	♂	7.	197	268
		10.	134	262
7	A.G.	1.	165	227
		4.	254	228
	♂	7.	206	207
		10.	195	205
8	M.F.	1.	181	231
		4.	312	211
	♂	7.	354	218
		10.	404	218
9	S.W.	1.	190	250
		4.	353	227
	♂	7.	260	240
		10.	176	238

Die Figuren 4 und 5 sind graphische Darstellungen der Tab. 4 (unterbrochene Linie: Gruppen A u. B
durchgezogene Linie: Gruppen D u. E)

Fig. 4

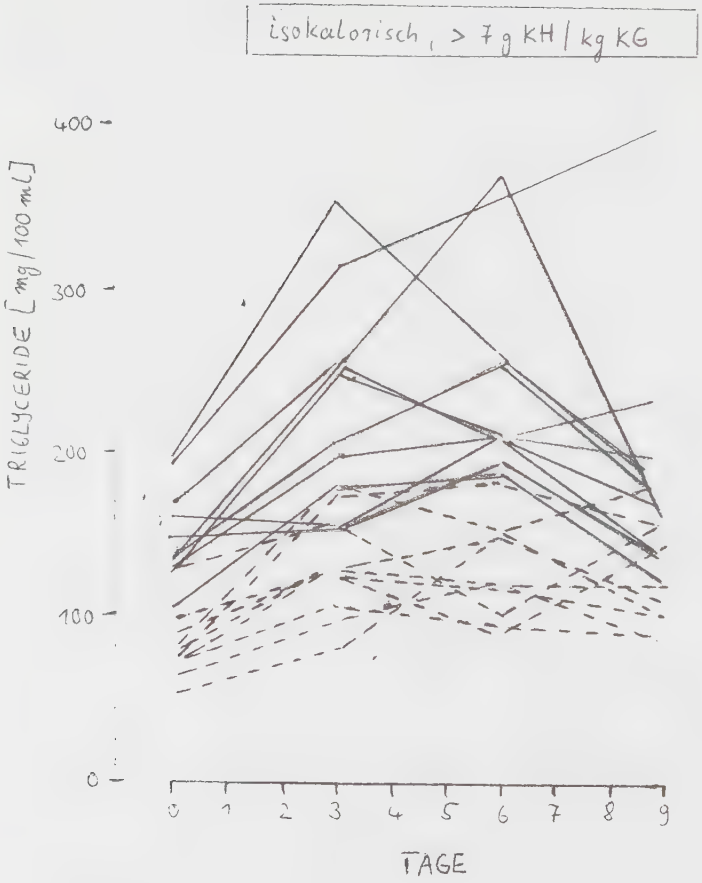
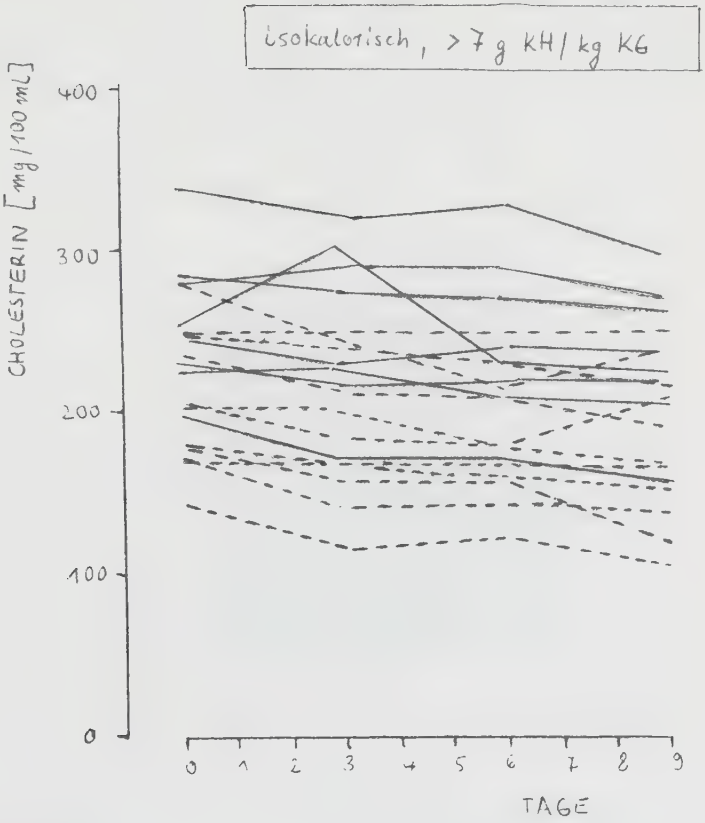


Fig. 5


isokalorisch, > 7 g KH/kg KG
CHOLESTERIN [mg/100 mL]
400
300
200
100
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
TAGE

Ein latenter Diabetes mellitus konnte bei den Versuchspersonen mit dem größten Triglyceridanstieg durch orale Glucosebelastung ausgeschlossen werden. Der Vater der Versuchsperson H.F. mit dem höchsten Triglyceridanstieg wies bei nachträglicher Untersuchung pathologische Werte für Cholesterin und Triglyceride sowie das für die kohlenhydratinduzierbare Hyperlipidämie typische Lipoproteinmuster auf. In Fig. 6 sind nebeneinder die Lipoproteinelektrophoresen mit den zugehörigen Cholesterin- und Triglyceridwerten der Nüchternseren der Versuchsperson H.F. und seiner Eltern abgebildet.

MUTTER VATER SOHN H.F.

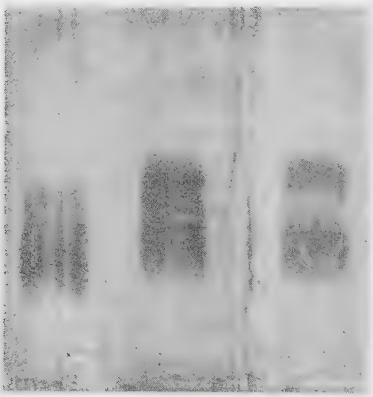
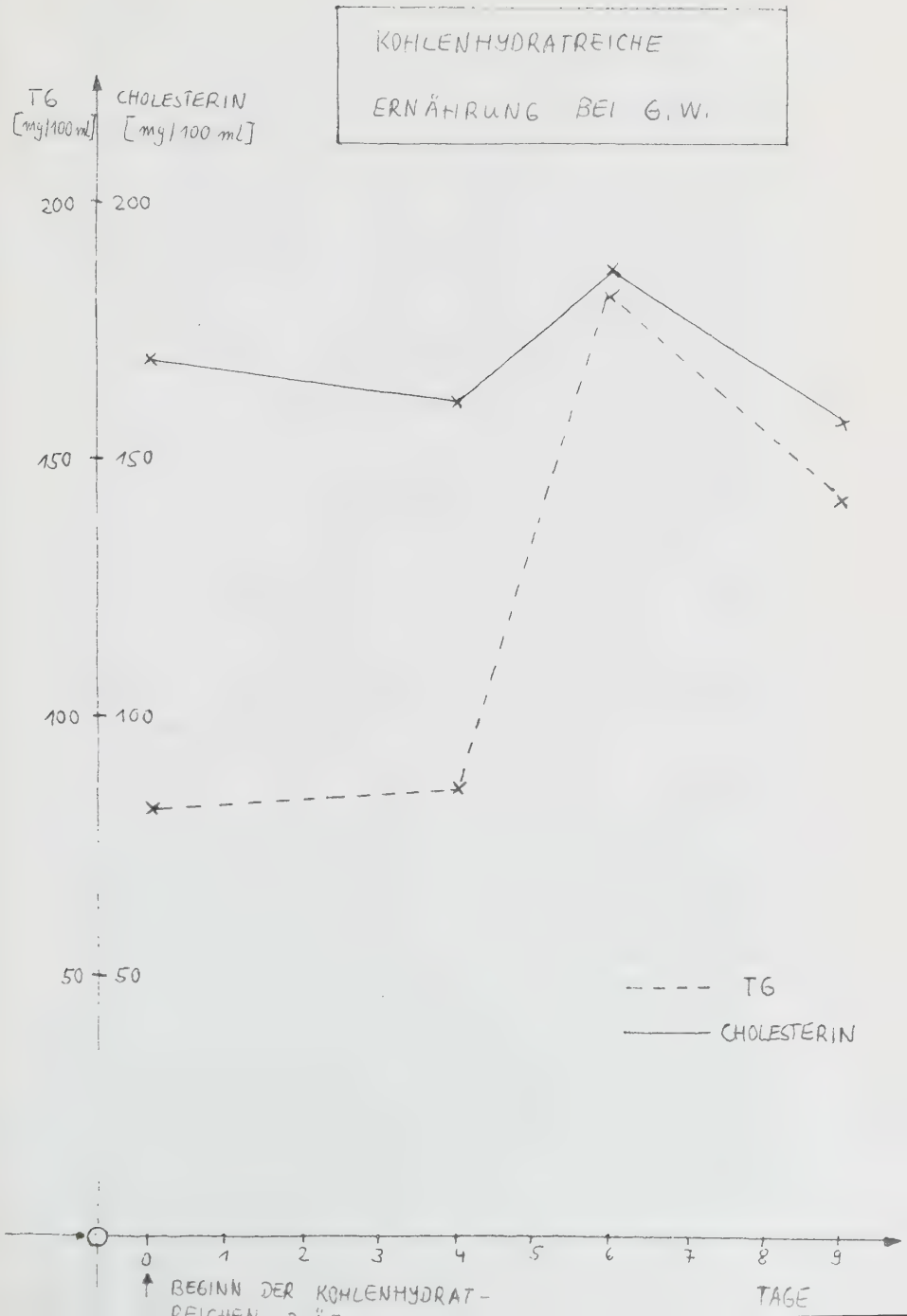


Fig. 6

Fig. 7 zeigt den Verlauf einer kohlenhydratreichen Diät bei einem 29-jährigen Mann, der pro Tag zusätzlich zu fettarmer, sonst beliebiger Ernährung mit einer Formeldiät aus 167 g Trockenmagermilchpulver und 279 g Sirup (7 g KH/kg KG, 1 500 Kcal) belastet wurde. Die Serumtriglyceridkonzentration nach dem 6. Tag zeigt dabei einen Anstieg auf mehr als das Doppelte des Ausgangswertes.

Fig 7


KOHLENHYDRATREICHE
ERNÄHRUNG BEI G.W.
TG [mg/100 ml]
CHOLESTERIN [mg/100 ml]
200
150
100
50
TG
CHOLESTERIN
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
BEGINN DER KOHLENHYDRAT-
TAGE

D. DISKUSSION

I. Normalkollektiv

Bei Betrachtung der Tab. 2 fällt auf, daß auch bei der Gruppe A mit einem Triglyceridwert von weniger als 85 mg/100 ml (durchschnittlich 65 mg/100 ml) in der Regel eine Prä-Beta-Bande nachweisbar ist. Untersucher, die mit der Papierelektrophorese arbeiteten, konnten eine Prä-Beta-Fraktion erst bei höheren Triglyceridkonzentrationen nachweisen: SMITH (23) fand mit Papierelektrophorese eine Prä-Beta-Fraktion bei fast 70 % der Untersuchten über 50 Jahren, während er den Nachweis einer solchen Fraktion bei Personen unter 30 Jahren für ungewöhnlich hält. Bei einer Untersuchung der Seren von 120 gesunden Versuchspersonen fand er bei 80 % der Frauen (Durchschnittsalter 40 Jahre) und bei 83 % der Männer (unter 30 Jahre) keine Prä-Beta-Fraktion. Eine schwache Prä-Beta-Bande konnte er bei 36 % der Männer von 31 bis 50 Jahren und bei 67 % der Männer über 50 Jahren nachweisen, eine starke Bande fand er nur in einem einzigen Fall.
BROWN und DOYLE (6) konnten mit Papierelektrophorese (Puffer mit Albuminzusatz) bei 50 gesunden Medizinstudenten nur in 30 % der Fälle eine Prä-Beta-Bande darstellen.
In einer Untersuchung von BROWN (5) an 589 Normalen mittels Papierelektrophorese hatten 141 keine sichtbare Prä-Beta-Bande, die überwiegende Mehrzahl wies Grad 2 oder mehr auf (bei 5 Graden). BROWN konnte bei allen Versuchspersonen mit TG > 150 mg/100 ml eine Prä-Beta-Bande nachweisen, was mit den Angaben von LEVY (18) übereinstimmt. Diese Beispiele zeigen deutlich die weit größere Empfindlichkeit der Elektrophorese in Agarosegel mit Albuminzusatz gegenüber der Papierelektrophorese.
Eine Zunahme der Intensität der Prä-Beta-Banden mit steigender Konzentration der Serumtriglyceride wird auch von BROWN und DOYLE (6) bestätigt.

Bei Gegenüberstellung bisheriger Messungen der Cholesterin- und Triglyceridkonzentration an vergleichbaren Kollektiven durch andere Untersucher ergeben sich teilweise größere Differenzen, die wohl in den meisten Fällen auf verschiedene Meßtechnik zurückzuführen sind.

FREDRICKSON, LEVY und LEES (13) schlagen für das Nüchternserum folgende Normalbereiche vor:

Alter (Jahre)	Cholesterin [mg/ 100 ml]	Triglyceride [mg/ 100 ml]
0 - 19	120 - 230	10 - 140
20 - 29	120 - 240	10 - 140
30 - 39	140 - 270	10 - 150
40 - 49	150 - 310	10 - 160
50 - 59	160 - 330	10 - 190

Für die Altersgruppe 20 - 29 Jahre geben die eben genannten Autoren für Männer eine durchschnittliche Cholesterinkonzentration von 183 ± 37 mg/ 100 ml, für Frauen von 179 ± 35 mg/ 100 ml, für Männer eine durchschnittliche Triglyceridkonzentration von 73 ± 32 mg/ 100 ml, für Frauen von 62 ± 29 mg/ 100 ml an. Nahezu gleiche Triglyceridkonzentrationen entfallen auf die Altersgruppe von 30 bis 39 Jahren (Männer : 78 ± 39 mg/ 100 ml, Frauen: 67 ± 48 mg/ 100 ml). BROWN, HESLIN u. DOYLE (7) fanden eine Triglyceridkonzentration von mehr als 147 mg/ 100 ml bei 55 % von Patienten mit koronaren Durchblutungsstörungen, bei 42 % eines Normalkollektivs anscheinend gesunder Personen (ohne Altersbegrenzung), dagegen nur bei 5 % gesunder Medizinstudenten. BROWN und DOYLE (6) ermittelten an einem Kollektiv von 602 Personen mit einer Cholesterinkonzentration > 246 mg/ 100 ml bei 466 Personen eine Triglyceridkonzentration > 147 mg/ 100 ml,

bei 136 Personen eine Triglyceridkonzentration < 147 mg/ 100 ml. Eine Zunahme der TG-Konzentration mit steigender Cholesterinkonzentration ist auch in Tab. 2 der eigenen Untersuchung festzustellen, besonders deutlich in Gruppe E.
CARLSON (9) schlägt für gesunde Personen bis zu 65 Jahren ohne verdächtige Familienanamnese als zulässige obere Grenze eine Cholesterinkonzentration von 332 mg/ 100 ml und eine Triglyceridkonzentration vom 193 mg/ 100 ml vor. Er ermittelte an einem Kollektiv von 78 Normalpersonen (Personen ohne pathologischen Befund in Anamnese und Untersuchung, ohne Eltern mit Angina pectoris oder Herzinfarkt und ohne pathologisches EKG) für die Altersgruppe von 26 bis 30 Jahren eine durchschnittliche Cholesterinkonzentration von 242 ± 14 mg/ 100 ml, worauf mit zunehmendem Alter ein leichter Anstieg mit einem Maximum bei 50 Jahren erfolgt. Als mittlere Triglyceridkonzentration werden für die Altergruppe von 26 bis 30 Jahren 82 mg/ 100 ml angegeben, weiterhin ein mäßiger Anstieg mit zunehmendem Alter mit einem Maximum von 117 mg/ 100 ml für die Altersgruppen von 36 bis 45 Jahren.
Aufgrund der Untersuchungen von SCHÄFER (22) an einem größeren Kollektiv amerikanischer Normalpersonen ergibt sich für die Altersgruppe von 20 bis 32 Jahren (Männer) bzw. 20 bis 34 Jahren (Frauen) folgendes Bild:

Männer: mittlere Cholesterinkonzentration
212 mg/ 100 ml (von 137 bis 548 mg/ 100 ml)
mittlere Triglyceridkonzentration
82 mg/ 100 ml (von 32 bis 852 mg/ 100 ml)

Frauen: mittlere Cholesterinkonzentration
198 mg/ 100 ml (von 143 bis 332 mg/ 100 ml)
mittlere Triglyceridkonzentration
54 mg/ 100 ml (von 16 bis 271 mg/ 100 ml).

Die von SCHÄFER ermittelten Cholesterinwerte für die Altersgruppe von 20 bis 34 Jahren stimmen mit den Resultaten der eigenen Untersuchung gut überein (mittlere Cholesterinkonzentration: 210,5 ± 79,4 mg/ 100 ml). Bei den Männern steigt nach SCHÄFER die Cholesterinkonzentration bis auf 242 mg/ 100 ml (47 J.) an, bleibt dann bis zum Alter von 60 Jahren konstant und fällt anschließend wieder ab. Die Serumtriglyceride fallen zunächst mit zunehmendem Alter wieder etwas ab, weisen im Bereich zwischen 43 und 55 Jahren einen steilen Anstieg auf (mittlere Triglyceridkonzentration bis 106 mg/ 100 ml) und fallen schließlich wieder ab.

Bei den Frauen zeigt sich ein stärkerer Anstieg der Chlosterinkonzentration mit zunehmendem Alter als bei den Männern mit einem Maximum von 274 mg/ 100 ml für die Altersgruppe von 53 bis 58 Jahren. Der Triglyceridwert ereicht bei den Frauen nur ein Maximum von 80 mg/ 100 ml mit 64 Jahren. Die gegenüber den Männern deutlich erniedrigte Triglyceridkonzentration der Frauen steht in Einklang mit den Angaben von FREDRICKSON (12) über eine größere Häufigkeit der hereditären Hyperlipidämie bei Männern als bei Frauen.

EGGSTEIN und KREUTZ (10) errechneten für ein Normalkollektiv von 20-40 jährigen Männern und Frauen eine mittlere Triglyceridkonzentration von 123 ± 49 mg/ 100 ml, wobei allerdings der durchschnittliche Triglyceridwert für Frauen höher ist als für Männer. Dieser Mittelwert stimmt mit dem über Esterfettsäuren an einem Marburger Normalkollektiv ermittelten Wert (121 ± 58 mg/ 100 ml) sowie mit dem in der vorliegenden Arbeit ermittelten (110, 6 ± 88,8 mg/ 100 ml) überein, wenn man dabei die Altersbegrenzung auf 19 bis 35 Jahre berücksichtigt. Bei Betrachtung der Figuren 1 und 2 fällt die gleichmäßige Verteilung der Meßpunkte über

den Normalbereich bei verhältnismäßig geringer Anhäufung im Bereich des Mittelwerts auf.
Fig. 3 zeigt eine deutliche Abhängigkeit der Serum-Triglyceridkonzentration von der Intensität der Prä-Beta-Bande.

II. Ernährungsversuch

Die Anwendung des Begriffs "kohlenhydratinduzierte Hyperlipidämie", der von AHRENS u. Mitarbeitern (1) geprägt wurde, ist nach FREDRICKSON, LEVY und LEES (13) nur berechtigt, wenn die Plasmatriglyceride bei einer täglichen Kohlenhydratbelastung von 7 g KH/ kg KG nach 4 bis 7 Tagen auf 300 bis 400 mg/ 100 ml ansteigen. Dabei erreicht der Triglyceridspiegel bei gesunden jungen Leuten nach Angaben der zuletzt genannten Autoren nach 3 bis 10 Tagen ein Maximum, wobei es zu einem durchschnittlichen Anstieg um 200 mg/ 100 ml und anschließend trotz weiterer Fortsetzung der Diät wieder zu einem Abfall kommt. Dieser Wiederabfall im Laufe der Zeit wird auch von FARQUHAR, FRANK, GROSS, REAVEN u. BROWN (11) erwähnt und bestätigt eigene Beobachtungen (s. Fig. 4 u. 7).
Im Vergleich dazu ist der Triglyceridanstieg unter gleichen Ernährungsbedingungen (7 g KH/kg / Tg) nach 7 Tagen bei Personen mit kohlenhydratinduzierter Hyperlipidämie wesentlich größer. GLUECK, LEVY und FREDRICKSON (14) geben für eine Gruppe von 14 solcher Personen, die einen mittleren Ausgangswert von TG= 282 mg/ 100 ml aufwiesen, unter den oben genannten Bedingungen einen mittleren Triglyceridanstieg von 289 mg/ 100 ml (99 - 665 mg/ 100 ml) an. Ein Anstieg der Plasmatriglyceride bei Kohlenhydratbelastung kann zwar auch bei Versuchspersonen mit niedrigem Triglyceridausgangswert provoziert werden, doch ist dieser Anstieg, wie die Fig. 4 zeigt, deutlich geringer als bei den Versuchspersonen mit hohem Ausgangswert. Ein Blick auf Fig. 5 läßt erkennen, daß sich die Cholesterinkonzentration der einzelnen Versuchspersonen im Laufe der Diät kaum änderten,

der Verlauf läßt sich bestenfalls als geringer Abfall der Cholestrinspiegel unter der fettärmeren Kost deuten.
LEVY, LEES und FREDRICKSON (18) konnten bei 11 Personen zwischen 18 und 21 Jahren ohne sichtbare Prä-Beta-Fraktion in der Papierelektrophorese die Triglyceridkonzentration durch Kohlenhydratbelastung auf das 2-3-fache erhöhen. LEES und FREDRICKSON (16) beobachteten während einer Kohlenhydratbelastung bis zu 10 g KH/kg KG/Tag an 7 Männern und 6 Frauen im Alter von 18 bis 20 Jahren (mittlere TG-Konzentration: 62 mg/ 100 ml) bei 12 der 13 Versuchspersonen einen Anstieg der Plasmatriglyceride um durchschnittlich 224 mg/ 100 ml (121 - 404 mg/ 100 ml). Dabei waren 7 g KH/ kg KG/Tag nötig, um die Triglyceridkonzentration auf über 200 mg/ 100 ml anzuheben.
KUO und BASSETT (15) erzielten mit Zuckerdiäten bei 5 Patienten mit gewöhnlicher kohlenhydratinduzierter Form von Hypertriglyceridämie und bei 2 Knaben mit normalen Triglyceridwerten, aber essentieller familiärer Hypercholesterinämie eine Verstärkung bzw. das Zustandekommen einer Hypertriglyceridämie.
REAVEN, FARQUHAR, SALANS, GROSS, WAGNER (21) ernährten 10 Patienten im Alter von 35 bis 52 Jahren, die normalen Nüchternblutzucker aufwiesen, aber an Atherosklerose litten, mit einer Formeldiät, die 80 bis 85 % KH enthielt. 8 der 10 Patienten entwickelten dabei eine kohlenhydratinduzierte Hyperlipidämie, 7 der 8 Patienten zeigten beim oralen Glukosetoleranztest eine abnormale Reaktion.
GLUECK, LEVY und FREDRICKSON (14), die 70 Versuchspersonen mit familiärer Hyperlipidämie (23 Typ III, 27 Typ IV, 20 Typ II nach FREDRICKSON) 7 Tage lang mit je 7 g KH/ kg KG/Tag belasteten, erhielten folgendes Ergebnis:
Typ III (mittlere Triglyceridkonzentration zu Beginn: 254 mg/ 100 ml) zeigte einen Anstieg um durchschnittlich 491 mg/ 100 ml und Typ IV (282 mg/ 100 ml) um 289 mg/100 ml.

Bei Vertretern des Typs II (153 mg/ 100 ml) war kein Anstieg größer als 190 mg/ 100 ml.
Die Möglichkeit der Vererbung der kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie (s. Fig. 6) wird von BRAUNSTEINER, SANDHOFER und SAILER (4) angedeutet. Danach fanden sich in der Verwandtschaft von 14 Personen mit primärer, kohlenhydratinduzierter Hyperlipidämie unter 53 Untersuchten 13 Personen mit erhöhten Blutfettwerten, 30 wiesen mit Papierelektrophorese eine Prä-Beta-Fraktion auf. Von 20 Geschwistern der 14 Probanden waren 8 hyperlipämisch, 14 zeigten eine Prä-Beta-Bande.
Bei Untersuchung der Verwandten (Eltern, Kinder, Geschwister) von 22 Patienten mit Hyperlipidämie vom Typ IV konnte FREDRICKSON (12) bei 40 % der Untersuchten das gleiche Phänomen nachweisen. Von 5 Patienten wurden beide Eltern überprüft, dabei wiesen in 2 Fällen beide Elternteile pathologische Werte auf, in den anderen 3 Fällen war 1 Elternteil normal, der andere zeigte die Merkmale von Typ IV.

Die Untersuchung mit der Lipoproteinelektrophorese in Agarosegel mit Albuminzusatz zeigt, daß die kohlenhydratinduzierte Hyperlipidämie bei jungen Erwachsenen häufiger ist, als bisher angenommen wurde. Es wird deutlich, daß eine kohlenhydratinduzierbare Hyperlipidämie durch einen Lipoidstatus unter normalen Ernährungsbedingungen nicht sicher ausgeschlossen werden kann, da die kohlenhydratinduzierte Hyperlipidämie offensichtlich ein Latenzstadium durchläuft, in dem wegen der vorerst noch normalen Cholesterin- u. Neutralfettwerte der Defekt nur bei Stoffwechselbelastung erkannt werden kann. Die Kontrolle der Veränderung der Serumlipoide während einer subakuten Kohlenhydratbelastung zusammen mit der Lipoproteinelektrophorese in Agarosegel scheint deshalb die geeignete Methode zur Früherkennung der kohlenhydratinduzierten Hyperlipidämie zu sein.

E. LITERATURVERZEICHNIS

1) Ahrens, E.H.: Carbohydrate-induced and fat-induced lipemia.
Trans. Ass. Amer. Phycns. 74: 134 (1961)

2) Albrink, M.J. and Man, E.B.:
Serum triglycerides in coronary artery disease.
Arch. Int. Med. 103: 4 (1959)

3) Wieland, O.: Glyzerin
In: Bergmeyer, H.U.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie G.m.b.H.
Weinheim/Bergstr. (1962)
S 211 - 214

4) Braunsteiner, H., Sandhofer, F. und Sailer, S.:
Primäre Hypertriglyceridämie und Atherosklerose.
Wiener klin. Wschr. (Springer-Verlag Wien (New York) 22: 401-403 (1969))

5) Brown, D.F.: Blood lipids and lipoproteins in atherogenesis.
Am. J. Med. 46: 696 (1969)

6) Brown, F. and Doyle, J.T.:
Pre-beta lipoproteinemia.
Amer. J. Clin. Nutrition 20: 324-332 (1967)

7) Brown, D.F., Heslin, A.S. and Doyle, J.T.:
Fasting and postprandial serum triglyceride levels in healthy young Americans.
Am. J. Clin. Nutrition 13: 1 (1963)

8) Brown, D.F., Kinch, A.S., and Doyle, J.T.:
Serum triglycerides in healthy and in ischemic heart disease.
New Engl. J. Med. 273: 947 (1965)

9) Carlson, L.A.: Serum lipids in normal men.
Acta med. scand. 167: 377-398 (1960)

10) Eggstein, M. und Kreutz, F.H.:
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutstrom und Gewebe.
Klin. Wschr. 44: 262 (1966)

11) Farquhar, A.F., Frank, A., Gross, R.C., Reaven, G.M. and Brown, E.P.:
Glucose, insulin, and triglyceride responses to high and low carbohydrate diets in man.
J. Clin. Inv. 45: 1649-1650 (1966)

12) Fredrickson, D.S.: Essential familial hyperlipidemia.
In: The metabolic basis of inherited disease. P. 489
Ed. by Stanbury, J.B., Wyngaarden, J.B., Fredrickson, D.S.; New York (1960). Blakiston Co., McGraw-Hill Book Co., Inc.

13) Fredrickson, D.S., Levy, R.J. and Lees, R.S.:
Fat transport in lipoproteins- an integrated approach to mechanisms and disorders.
New Engl. J. Med. 276 (1967)

14) Glueck, C.J., Levy, R.J. and Fredrickson, D.S.:
Immunoreactive insulin, glucose tolerance and carbohydrate inducibility in familial endogenous hyperglyceridemia.
Clin. Res. 16: 343 (1968)

15) Kuo, P.T. and Bassett, D.R.: Dietary sugar in the production of hyperglyceridemia.
Am. intern. Med. 62: 1211

16) Lees, R.S. and Fredrickson, D.S.: Carbohydrate induction of hyperlipemia in normal man.
Clin. Res. 13: 327 (1965)

17) Lees, R.S. and Hatch, F.T.: Sharper separation of lipoprotein species by paper electrophoresis in albumin-containing buffer.
J. Lab. Clin. Med. 61: 518 (1963)

18) Levy, R.J., Lees, R.S. and Fredrickson, D.S.: Nature of prebeta (very low density) lipoproteins. J. Clin. Inv. 45: 66 (1966)

19) Noble, R.P. J. Lipid Res. 9: 693 (1968)

20) Rapp, W. und Kahlke, W.: Clin. chim. Acta Amsterdam 19: 493 (1968)

21) Reaven, G.M., Farquhar, J.W., Salans, L.B., Gross, R.C. and Wagner, R.M.: Carbohydrate-induced lipemia. Clin. Res. 12: 277 (1964)

22) Schaefer, L.E.: Serum cholesterol-triglyceride distribution in "normal" New York City population. Am. J. Med. 36: 262 - 268 (1964)

23) Smith, E.B.: Lipoprotein patterns in myocardial infarction. Lancet ii 273: 911, 912 (1957)

24) Sperry, W.M.: Lipide analysis. In: Methods of biochemical analyses. 2: 83 New York - London: Interscience Publishers (1955)

25) Watkin, D.M., Froeb, H.F., Hatch, F.T. and Gutman, A.B.: Effects of diet in essential hypertension II. Results with unmodifi Kempner rice diet in fifty hospitalize patients. Am. J. Med. 9: 441 - 493 (1950)

26) Zöllner, N. und Eberhagen, D.: Untersuchung und Bestimmung der Lipoide im Blut. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1965)

27) Zöllner, N., Gröbner, W., Berger, Chr. und Wolfram, G.: Elektrophoretische Trennung der Serumlipoproteine. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 7: 525 (1969)

Herrn Professor Dr. N. Zöllner danke ich für die Überlassung des Themas meiner Arbeit und seine Unterstützung bei ihrer Durchführung.

Herrn Dr. G. Wolfram und Herrn Dr. W. Gröbner danke ich für die wertvollen Hinweise, die sie mir für die Entstehung der Arbeit gaben.

Frl. K. Kirsch und Frau C. Berger danke ich für ihre technische Unterstützung.

L e b e n s l a u f

Ich, Hans Werner Maier, wurde am 6. August 1945 als Sohn des Berufssoldaten Johann Maier und seiner Ehefrau Josefine, geb. Eggersdorfer, in Freising geboren.
Von 1951 bis 1956 besuchte ich die Volksschule, von 1956 bis 1965 die Oberrealschule in Freising, wo ich 1965 die Reifeprüfung ablegte.
Von 1966 bis 1972 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München Humanmedizin.
Im Wintersemester 1966/67 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Wintersemester 1968/69 die ärztliche Vorprüfung und im Juli 1972 das medizinische Staatsexamen.